

## 식품위생관계 미생물에 대한 가열처리와 감마선조사의 병용효과

권오진 · 변명우<sup>†</sup>

한국원자력연구소 방사선 식품공학연구실

### The Combined Effect of Heat and Gamma Irradiation on the Inactivation of Selected Microorganisms Associated with Food Hygiene

Oh-Jin Kwon and Myung-Woo Byun<sup>†</sup>

Dept. of Food Irradiation, Korea Atomic Energy Research Institute, Taejon 305-353, Korea

#### Abstract

The bactericidal effectiveness of radiation alone or in combination with heat against 8 strains associated with food hygiene were evaluated. In the case of radiation alone,  $D_{10}$  values of microorganisms were 0.14~0.48 kGy, and inactivation factors were 4.54~21.43 at the doses of 2~3 kGy. *Escherichia coli* was the most sensitive among the tested strains, resulting in a  $D_{10}$  value of 0.14 kGy.  $D_{min}$  values of the strains were 10~40 minutes at  $50 \pm 1^\circ\text{C}$ , and 5~10 minutes at  $60 \pm 1^\circ\text{C}$ . Combination with heat and radiation showed  $D_{10}$  values of 0.04~0.31. Inactivation factors were 6.45~75 at the doses of 2 to 3 kGy. Therefore, heat treatment prior to irradiation significantly increased inactivation rate by increasing radiation sensitivity of microorganisms.

**Key words:** gamma irradiation, heat combination, microorganism,  $D_{10}$  values

#### 서 론

식품조사에 이용되는 방사선은 투과력이 강하고 약품처리 처럼 식품속에 잔류성분이 남지 않을 뿐 아니라 가열처리와 같이 식품의 품온을 높이지 않으므로 영양성분의 손실을 줄이며 외관의 변화를 일으키지 않은 냉온살균처리 방법으로서의 장점을 가지고 있다(1-4). 최근에 식품조사는 미국을 비롯한 선진국에서 원료식품, 특히 동물성 식품에 광범위하게 오염되어 있는 병원성 유기체를 사멸시켜 자국민에게 공중보건상 가장 중요한 이익을 가져다 주는 방법으로 이용되고 있다(5-9). 식품조사기술 산업화의 국제적 현황은 미국을 비롯 37개국에서 200여종의 식품에 방사선 조사를 허가하였으며 이중 25개국에서 상업적 규모로 본 기술을 실용화하고 있고(4) 국내에서도 한국원자력연구소와 국제기관의 연구결과를 바탕으로 '87~'95년 사이에 걸쳐 13개 식품품목군(약 25종류)의 방사선조사 허가를 보건복지부로부터 취득하여 일부 품목들이 상업

적으로 방사선 조사가 행하여지고 있다(10,11). 현재 대부분의 국가는 식품에서 기인된 질병, 즉 병원성 미생물, 기생충 등의 오염이 인류건강에 가장 큰 위협을 가져오고 이로 인해 경제적 생산성이 크게 저하되고 있으며 선진국에서 이러한 문제점 해결을 위해 방사선 조사 연구가 수행되고 있다(12-18). 미생물의 방사선 감수성은 식품과 미생물의 종류 및 조사조건에 따라 다르므로 살균목적에 따라 방사선 조사선량을 조절하여야 한다. 그러나 실제 식품에서 미생물을 완전히 불활성화 하기 위해서는 고선량의 방사선을 조사시켜야 하나 식품자체의 물성변화 및 기호성 등의 문제로 보다 낮은 조사선량으로 살균할 수 있는 효과적인 방법이 필요하다(19,20).

이에 본 연구에서는 식품의 영양성분 변화를 최소화하는 낮은 가열온도와 방사선 조사선량으로 살균 목적을 달성하기 위해 2종의 곰팡이와 6종의 세균에 감마선 조사 단독 및 가열과의 병용처리하여 이들 미생물에 미치는 영향을 조사하였다.

<sup>†</sup> To whom all correspondence should be addressed

재료 및 방법

공시균주 및 배지

시험에 사용된 미생물은 한국미생물보존센터로부터 구입한 그람음성균인 *Escherichia coli*(ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC 27853), *Salmonella typhimurium*(ATCC 14028), *Enterobacter aerogenes*(ATCC 13048), *Vibrio parahaemolyticus*(ATCC 17802)와 그람양성균인 *Staphylococcus aureus*(ATCC 25923) 및 곰팡이로는 *Aspergillus flavus*(ATCC 9643), *Penicillium islandicum*(ATCC 10127)을 사용하였다. 각종 미생물에 사용된 배지로는 세균의 경우 nutrient broth(NB, Difco)와 nutrient agar(NA, Difco), *Vibrio*는 3% NaCl이 첨가된 NB와 NA, *S. aureus*는 tryptic soy broth(TSB, Difco)와 tryptic soy agar(TSA, Difco), 곰팡이는 potato dextrose broth(PDB, Difco)와 potato dextrose agar(PDA, Difco)를 사용하였다.

균주의 배양과 현탁액의 조제

세균의 영양세포

공시균주를 각각의 사면배지에 24시간 수회 계대배양 후 이것을 동일한 액체배지 100ml에 1백금이를 접종하여 *E. aerogenes*, *V. parahaemolyticus*는 30°C, 그 외의 균주들은 37°C에서 24시간 진탕배양(120rpm)한 다음 현탁액 1ml를 다시 새로운 액체배지 100ml에 접종하고 8시간 진탕배양시켜 대수기의 영양세포를 얻었다. 이 영양세포 현탁액을 4°C에서 10분간 원심분리(9,000×g)하여 얻은 균체를 냉 0.1M phosphate buffer(pH 6.5)로 2회 세척, 원심분리하여 최종 영양세포의 농도가 10<sup>7</sup>~10<sup>9</sup>cells/ml가 되도록 조절하였다.

분생포자

*A. flavus*와 *P. islandicum*의 균주를 PDA 배지에 각각 25°C와 37°C에서 1~2주간 사면배양하였다. 이와 같이 형성된 분생포자를 냉 0.1M phosphate buffer를 사용하여 수집하고 여과, 세척, 원심분리(7,000×g)하여 최종 분생포자의 농도를 10<sup>6</sup>~10<sup>7</sup>cells/ml가 되도록 조절하였다.

방사선 조사

공시균주의 영양세포 및 분생포자 현탁액 2.0ml를 멸균시험관(∅1.0×10cm)에 넣고 방사선 조사 후, 균 현탁액을 냉 0.1M phosphate buffer로 적절히 희석하여 각 미생물에 적합한 배지가 들어 있는 petri dish에 0.2ml씩 접종하여 spreader로 도말하고 최적온도에서 배양한 후에 형성된 집락을 계수하였다. 방사선 조사

는 선원 10만 Ci, <sup>60</sup>Co 감마선 조사시설을 이용하여 분당 71.5 Gy의 선량율로 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 및 3.0 kGy를 각각 조사하였다.

가열처리

가열처리는 공시균주의 영양세포 및 포자 현탁액 2.0ml를 멸균시험관(∅1.0×10cm)에 넣고 50°C, 60±0.2°C의 항온수조에서 각각 5분, 10분, 20분 및 30분간 열처리한 후 상기와 같은 방법으로 형성된 집락을 계수하였다.

가열과 방사선의 병용처리

가열과 방사선 조사의 병용처리 효과를 조사하기 위하여 각각의 균 현탁액 2.0ml를 멸균시험관(∅1.0×10cm)에 넣고 50°C에서 10분간 열처리한 다음 방사선 단독 조사시와 동일한 조건의 선량율로 방사선을 각각 조사하고 상기와 같은 방법으로 형성된 집락을 계수하였다.

결과 및 고찰

방사선 조사의 효과

식품위생관련 미생물의 방사선 감수성은 Fig. 1, 2의 생존곡선과 이들 생존 곡선으로부터 D<sub>10</sub> 값, 12D<sub>10</sub> 값과 2 kGy와 3 kGy에서의 불활성화 계수(n)를 계산

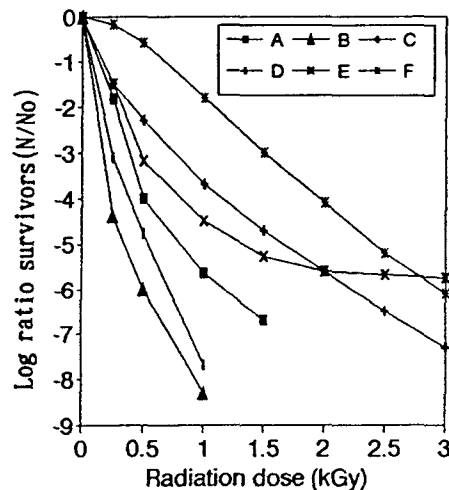


Fig. 1. Radiation survival curves of the selected bacterial cells.

- A: *Pseudomonas aeruginosa*
- B: *Escherichia coli*
- C: *Salmonella typhimurium*
- D: *Enterobacter aerogenes*
- E: *Vibrio parahaemolyticus*
- F: *Staphylococcus aureus*

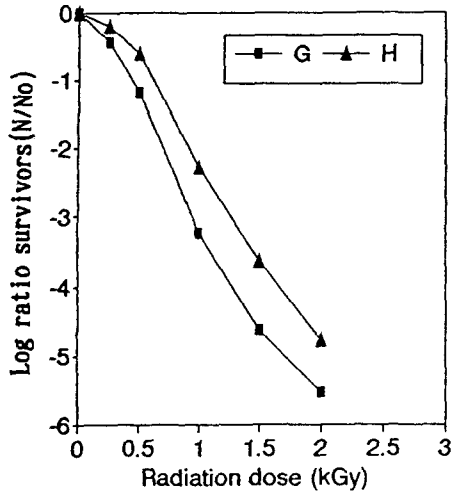


Fig. 2. Radiation survival curves of the selected moulds.  
G: *Aspergillus flavus*  
H: *Penicillium islandicum*

하여 Table 1과 같은 결과를 얻었다. 미생물들의 D<sub>10</sub> 값으로 나타낸 방사선 감수성은 세균의 경우, 균주에 따라 다소의 차이가 있었으며 *E. coli*가 0.14 kGy로 가장 높았고 그 다음이 *E. aerogenes*로 0.17 kGy, *P. aeruginosa*는 0.21 kGy 등의 순이었으며 *S. aureus*가 0.48 kGy로 가장 낮았다. 곰팡이인 *A. flavus*와 *P. islandicum*은 D<sub>10</sub> 값이 각각 0.35 kGy와 0.37 kGy로 비슷하게 나타났다. 일반적으로 유포자 세균이 불활성화 되려면 고선량의 방사선 조사가 요구되나 무포자 영양세포의 경우에는 본 실험의 결과에서와 같이 방사선 감수성이 높았다. 한편 이들 미생물들의 완전살균을 위해서는 1.68 kGy에서 5.76 kGy 범위의 조사선량이 요구되었으며 불활성화 계수에 있어서는 *E. coli*, *P. aeruginosa* 및 *E. aerogenes*는 2, 3 kGy조사로서 9~21 log cycles 이상 감소시킬 수 있었고 그외의 균주들은 4~9 log cycles 이상 감소시킬 수 있을 것으로 생각된다. 이는 Monk 등(21)과 岡(22)의 식중독 및 식품

부패세균들의 방사선 감수성과 대체로 유사하게 나타났다. FAO/WHO/IAEA의 식품조사 공동전문위원회는 10 kGy 이내의 조사식품의 식용은 인체에 안전하다고 보고한 바 있어 본 실험의 결과로 볼 때, 실제 식품에 오염된 이들 미생물들은 10 kGy 이내의 조사로서 안전하게 살균할 수 있을 것으로 생각된다.

가열 처리의 효과

Fig. 3~5은 공시균주들을 일정시간 가열처리 후 생존곡선을 나타낸 것이며, 이들 생존곡선으로부터 얻어진 D 값을 Table 2에 나타냈다. 식품위생관련 세균들은 50°C에서는 거의 직선적으로 감소하였으며 60°C에서는 가열 10분까지 급격한 감소를 보였으나 그 후에는 완만한 곡선을 나타내었다. 50°C의 가열처리로서 D 값은 *E. aerogenes*와 *A. flavus*가 30분 정도, *S. typhimurium*는 20분 정도였으며 그외의 균주들은 10분 정도였다. 60°C에서는 *S. typhimurium*이 16분으로 가장 높

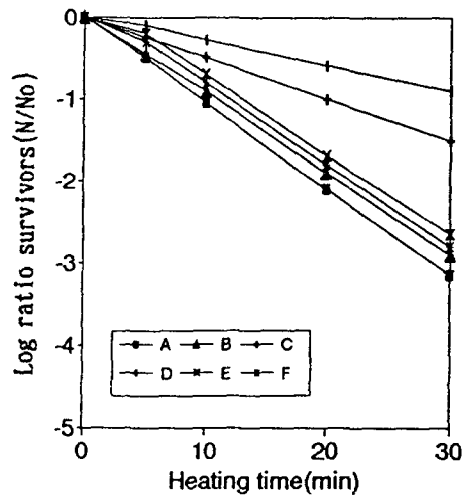


Fig. 3. Survival curves of the selected bacterial cells heated at 50°C.  
A, B, C, D, E, F: refer to Fig. 1.

Table 1. Radiation sensitivity of the selected microorganisms

Strain	D <sub>10</sub> value(kGy)	12D <sub>10</sub> value(kGy)	Inactivation factor	
			2 kGy	3 kGy
<i>Escherichia coli</i>	0.14	1.68	14.28	21.43
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.21	2.52	9.52	14.28
<i>Salmonella typhimurium</i>	0.44	5.28	4.54	6.82
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.17	2.04	11.76	17.65
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.33	3.96	6.06	9.09
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.48	5.76	4.17	6.25
<i>Aspergillus flavus</i>	0.35	4.20	5.71	8.57
<i>Penicillium islandicum</i>	0.37	4.44	5.40	8.11

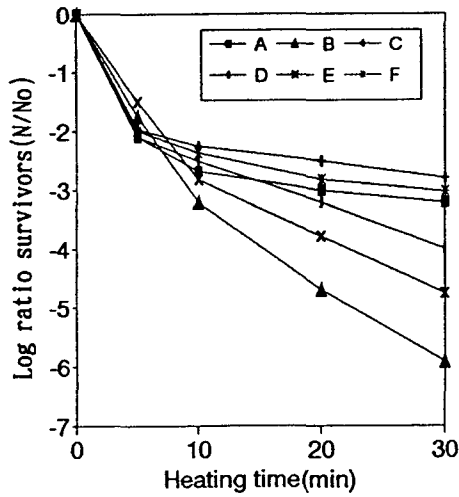


Fig. 4. Survival curves of the selected bacterial cells heated at 60°C.  
A, B, C, D, E, F: refer to Fig. 1.

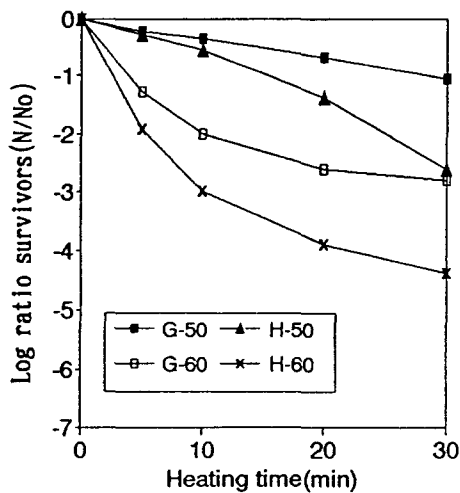


Fig. 5. Survival curves of the selected moulds heated at 50°C and 60°C.  
G-50: *Aspergillus flavus*(50°C)  
G-60: *Aspergillus flavus*(60°C)  
H-50: *Penicillium islandicum*(50°C)  
H-60: *Penicillium islandicum*(60°C)

았으며 *E. aerogenes*가 3.7분으로 가장 낮았다. Schaffner 등(23)은 *Salmonella enteritidis*의 D 값이 50°C에서 33.98분, 60°C에서 3.06분으로 보고하였다.

가열과 방사선의 병용처리 효과

방사선의 살균작용에 대한 상승효과와 비교적 낮은 온도와 저선량의 방사선 조사로서 목적하는 바 살균효과를 기대할 수 있으므로 방사선 조사 전 가열처리 방법을 이용하였다. Fig. 6과 7, Table 3은 미생물을 불활성화를 위한 가열과 방사선 조사와의 병용처리 효과를 나타낸 것이다. 공시균주들은 방사선 단독처리의 D<sub>10</sub> 값이 0.14~0.48 kGy인데 비하여 가열처리와의 병용시는 0.04~0.31 kGy의 범위로 거의 1.0 kGy의 조사선량을 각각 감소시킬 수 있었다. *E. coli*는 본 실험에서 사용한 8균주 중 D<sub>10</sub> 값으로 본 방사선 감수성이 0.14 kGy로 가장 높았으나 가열과 방사선과의 병용처리로 방사선 감수성이 0.08 kGy로 증가하였고 *P. aeruginosa*와 *V. parahaemolyticus*는 각각 0.21 kGy, 0.33 kGy에서 0.04 kGy, 0.05 kGy로서 증가하여 이들 균주들에 대

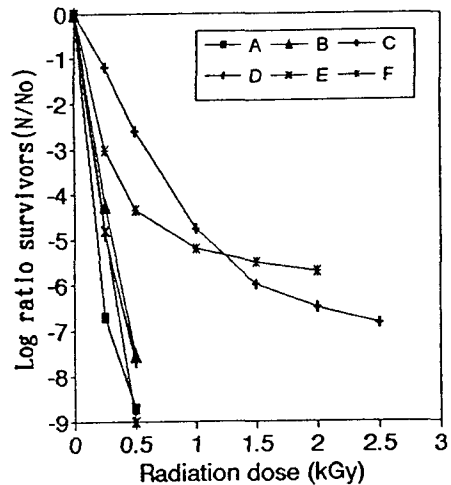


Fig. 6. Survival curves of the selected bacterial cells by the combined treatment of heat(50°C, 10min) and radiation.  
A, B, C, D, E, F: refer to Fig. 1.

Table 2. Heat sensitivity of the selected microorganisms

Heating temperature(°C)	D value(min) <sup>1)</sup>							
	<i>E</i> <sup>2)</sup>	<i>P</i> <sup>3)</sup>	<i>S</i> <sup>4)</sup>	<i>En</i> <sup>5)</sup>	<i>V</i> <sup>6)</sup>	<i>St</i> <sup>7)</sup>	<i>A</i> <sup>8)</sup>	<i>P</i> <sup>9)</sup>
50	9.8	9.2	21.2	36.1	12.7	11.9	30.8	10.8
60	3.7	8.9	16.0	6.6	4.9	9.4	9.8	7.4

<sup>1)</sup>D value(Decimal reduction time) is the time in minutes required to destroy 90% of the population

<sup>2)</sup>*Escherichia coli*, <sup>3)</sup>*Pseudomonas aeruginosa*, <sup>4)</sup>*Salmonella typhimurium*, <sup>5)</sup>*Enterobacter aerogenes*,

<sup>6)</sup>*Vibrio parahaemolyticus*, <sup>7)</sup>*Staphylococcus aureus*, <sup>8)</sup>*Aspergillus flavus*, <sup>9)</sup>*Penicillium islandicum*

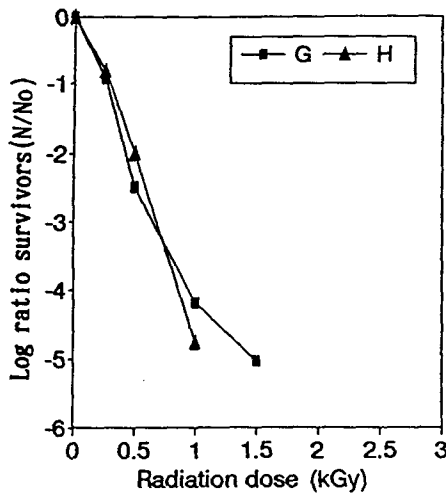


Fig. 7. Survival curves of the selected moulds by the combined treatment of heat(50°C, 10min) and radiation.  
G, H: refer to Fig. 2.

한 병용처리 효과가 매우 좋았다. *E. aerogenes*는 공시균주들 중 열저항성이 가장 높아  $D_{50C}$ 가 36.1이었고 방사선 감수성도  $D_{10}$  값이 0.17 kGy이었으나 병용처리로서  $D_{10}$  값이 0.06 kGy로 나타나 살균효과가 크게 증가되었다. *A. flavus*와 *P. islandicum*의 곰팡이들은 단독처리시 0.35~0.37 kGy에서 병용처리시에는 0.31~0.21 kGy로 방사선 감수성이 증가하였지만 그 증가 정도가 낮았다. 불활성화 계수는 2 kGy에서 병용처리시에 6.45~50.00로 나타났고 이는 단독처리시의 5.71~14.28 보다 월등하게 높아 공시균주들의 살균효과가 현저하게 상승되었음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 식품위생관련 미생물의 살균에 적용하면 식품의 물성변화를 최소화하는 낮은 가열온도와 방사선 조사선량으로 살균 목적을 달성할 수 있을 것으로 생각되고 최(24)도 병용처리의 상승효과를 보고한 바 있다.

## 요 약

식품위생 관련 미생물 8종에 대한 방사선 단독 및 가열처리와의 병용처리에 의한 살균효과를 조사한 결과, 방사선 단독처리시는 공시균주들의  $D_{10}$  값은 0.14~0.48 kGy로 나타났으며 그 중 *Escherichia coli*가 0.14 kGy로 감수성이 가장 높았다. 불활성화 계수는 2~3 kGy 조사시 4.54~21.43으로 나타났고. 가열 단독처리시에는  $D_{(min)}$  값이 50±1°C에서는 10~40분, 60±1°C에서는 5~15분 정도로 나타났고. 가열과 방사선과의 병용처리시는  $D_{10}$  값이 0.04~0.31 kGy의 범위로 나타났고 불활성화 계수도 2~3 kGy 조사시에는 6.45~75로 나타났고. 이상의 결과, 가열과 방사선의 병용처리시는 균주들의 방사선 감수성을 현저하게 상승시킴을 알 수 있었다.

## 문 헌

- Farkas, J. : Microbiological safety of irradiated foods. *Int. J. Food Microbiol.*, **9**, 1(1989)
- 한국원자력연구원 : 방사선 조사 인삼의 안전성 및 효능평가에 관한 연구. 과학기술처 제 5차년도 년차보고서, KAERI/RR-1442, pp 31(1994)
- 伊藤 均 : 食品保藏, 殺菌への放射線利用. *New Food Industry*, **28**, 17(1986)
- Josephson, E. S. : Health aspects of food irradiation. *Food Nutr. Bull.*, **13**, 40(1991)
- Katusin-Razem, B., Razem, D., Matic, S., Mihokovic, V., Kostromin-Soons, N. and Milanovic, N. : Chemical and organoleptic properties of irradiated dried whole egg and egg yolk. *J. Food Prot.*, **52**, 781(1989)
- Ahmed, N. M., Conner, D. E. and Huffman, D. L. : Heat-resistance of *Escherichia coli* O157 : H7 in meat and poultry as affected by product composition. *J. Food Sci.*, **60**, 606(1995)
- Poole, S. E., Mitchell, G. E. and Mayze, J. L. : Low dose irradiation affects microbiological and sensory quality of sub-tropical seafood. *J. Food Sci.*, **59**, 85(1994)
- 권중호, 변명우, 조한욱 : 방사선 조사에 의한 육류제품

Table 3. Combined effect of heat(50°C, 10min) and radiation on the inactivation of the selected microorganisms

Strain	$D_{10}$ value(kGy)	$12D_{10}$ value(kGy)	Inactivation factor	
			2 kGy	3 kGy
<i>Escherichia coli</i>	0.08	0.96	25.00	37.50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.04	0.48	50.00	75.00
<i>Salmonella typhimurium</i>	0.25	3.00	8.00	12.00
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.06	0.72	33.33	50.00
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.05	0.60	40.00	60.00
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.14	1.68	14.28	21.43
<i>Aspergillus flavus</i>	0.31	3.72	6.45	9.68
<i>Penicillium islandicum</i>	0.21	2.52	9.52	14.28

- 의 저장에 관한 연구. 제 1보 : 햄의 저장. 한국식품과학회지, **15**, 364(1983)
9. Ennahar, S., Kuntz, F., Strasser, A., Bergaentzle, M., Hasselmann, C. and Stahl, V. : Elimination of *Listeria monocytogenes* in soft and red smear cheeses by irradiation with low energy electrons. *International J. Food Sci. Technol.*, **29**, 395(1994)
  10. WHO : Wholesomeness of irradiated food. Report of a joint FAO/IAEA/WHO export committee on the wholesomeness of irradiated food. Technical Report Series-659, p.34(1981)
  11. 변명우 : 식품의 방사선조사 연구 및 실용화. 원자력산업, **15**, 66(1995)
  12. 차보숙, 김우정, 변명우, 권중호, 조환옥 : 김치의 저장성 연장을 위한 Gamma선 조사. 한국식품과학회지, **21**, 109(1989)
  13. Szczawinski, J., Szczawinska, M. and Szulc, M. : Effect of irradiation on antibotulinal efficacy of nitrite. *J. Food Sci.*, **54**, 1313(1989)
  14. Thayer, D. W. and Boyd, G. : Radiation sensitivity of *Listeria monocytogenes* on beef as affected by temperature. *J. Food Sci.*, **60**, 237(1995)
  15. Howard, L. R., Miller, G. H. JR. and Wagner, A. B. : Microbiological, and Chemical, and sensory changes in irradiated *pico de Gallo*. *J. Food Sci.*, **60**, 461(1995)
  16. Singh, H., George, I. and Mehta, K. : *Salmonella* and spoilage bacteria in chicken parts : Irradiation with low energy electrons. *Isotopes and Radiation Technology in Industry*, p.153(1994)
  17. Bruns, M. A. and Maxcy, R. B. : Effect of irradiation temperature and drying on survival of highly radiation resistant bacteria in complex menstua. *J. Food Sci.*, **44**, 1743(1979)
  18. Kwon, J. H., Byun, M. W. and Cho, H. O. : Effects of gamma irradiation dose and timing treatment after harvest on the storeability of garlic bulbs. *J. Food Sci.*, **50**, 379(1985)
  19. Banati, D., Fielding, L. M., Grandison, A. S. and Cook, P. E. : The effect of combinations of irradiation and pH on the survival of *Escherichia coli* on chicken meat. *Lett. Appl. Microbiol.*, **16**, 239(1993)
  20. Satin, M. : Food irradiation. Technomic publishing Co., Inc., Lancaster, p.116(1993)
  21. Monk, J. D., Beuchat, L. R. and Doyle, M. P. : Irradiation inactivation of food-borne microorganism. *J. Food Prot.*, **58**, 197(1995)
  22. 岡 充 : 食品 の 放射線 殺菌. 食衛誌, **11**, 229(1970)
  23. Schaffner, D. F., Hamdy, M. K., Toledo, R. T. and Tift, M. L. : *Salmonella* inactivation in liquid whole egg by thermoradiation. *J. Food Sci.*, **54**, 902(1989)
  24. 최연호 : 미생물의 방사선감수성과 DNA 손상에 관한 연구. 서울대학교 대학원 박사학위논문(1980)

(1996년 7월 9일 접수)